

بررسی سطح بیان ژن‌های mRNA سیتوکاین‌های IL-17 و IL-23 در بافت مخاطی معدة بیماران دارای گاستریت با استفاده از روش Real-Time PCR در استان چهارمحال و بختیاری

نادر باقری^۱، لقمان سلیم زاده^۲، فاطمه آزادگان دهکردی^۳، دکتر مرتضی هاشم زاده^۴، ثریا حیدری^۵، راضیه رحیمیان^۶،
دکتر قربانعلی رحیمیان^۷، دکتر افشین تقی خانی^۸، دکتر محمود رفیعیان-کوپایی^۹، دکتر سلیمان خیری^{۱۰}،

دکتر هدایت اله شیرزاد*

^۱گروه ایمنی شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ ^۲مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد،
ایران؛ ^۳مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۴گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۲۰ اصلاح نهایی: ۹۲/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: اینترلوکین‌های ۱۷ و ۲۳ در دفاع بر علیه برخی عفونت‌های مخاطی دستگاه گوارش نقش دارند و IL-17 باعث جذب نوتروفیل‌ها به محل عفونت شده و در ایجاد التهاب نقش دارد. مطالعه حاضر میزان بیان mRNA سیتوکاین‌های IL-17 و IL-23 در دو گروه بیماران گاستریتی با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و فاقد عفونت را به وسیله روش کمی Real-Time PCR بررسی می‌کند.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، از ۵۸ بیمار دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و ۵۰ بیمار مبتلا به گاستریت که فاقد عفونت بودند، توسط آندوسکوپی بیوپسی تهیه شد. بعد از استخراج mRNA تبدیل آن به cDNA، میزان بیان mRNA مربوط به IL-17 و IL-23 در نمونه‌ها توسط Real-Time PCR اندازه گیری شد و بیان سیتوکاین‌ها در دو گروه آلوده و غیر آلوده با استفاده از تست Mann-Whitney مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: ارتباط معنی‌داری بین میزان بیان IL-17 mRNA در افراد دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و افراد دارای گاستریت فاقد عفونت دیده نشد ($P=0/941$). همچنین ارتباط بین میزان بیان IL-23 mRNA در بیماران دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بیماران دارای گاستریت فاقد عفونت معنی دار نبود ($P=0/076$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که میزان بیان mRNA سیتوکاین‌های IL-17 و IL-23 در بیماران دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با بیماران گاستریتی بدون عفونت بالاتر نمی‌باشد و در نتیجه ارتباط معنی‌داری بین دو گروه مورد مطالعه در این استان وجود ندارد؛ لذا می‌تواند تا نقش دقیق سیتوکاین‌های دیگر درگیر در بروز بیماری گاستریت جهت تعیین پیش‌آگهی و ارزیابی برنامه‌های درمانی بیشتر مشخص شود.

واژه‌های کلیدی: اینترلوکین، هلیکوباکتر پیلوری، Real-time PCR.

مقدمه:

معدة می‌باشند. بررسی‌های آماری نشان می‌دهد که حدود ۵۰ درصد از جمعیت جهان به این باکتری آلوده‌اند و حدود ۲ تا ۵ درصد از این افراد نهایتاً به سرطان معده دچار می‌شوند (۱، ۲). در بررسی اطلاعات

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری مارپیچی شکل گرم منفی، با قابلیت درگیر کردن معده انسان می‌باشد. تحقیقات صورت گرفته تاکنون نشان دهنده ارتباط این باکتری با زخم‌های معده‌ای-روده‌ای و نیز سرطان

*نویسنده مسئول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، تلفن ۰۳۸۱-۳۳۳۵۶۵۴

E-mail: shirzadeh@yahoo.com

بدست آمده از سراسر دنیا که در سال ۲۰۰۵ صورت گرفت، مشاهده شد که در سال ۲۰۰۲، ۹۳۴۰۰۰ مورد سرطان معده اتفاق افتاده که از این تعداد سالانه ۷۰۰۰۰۰ مورد به مرگ منتهی شده است (۳). به لحاظ وسعت ضررهای جانی و مالی که در رابطه با این باکتری مطرح است، به خصوص اینکه هلیکوباکتریلوری سر دسته عوامل عفونی ایجاد کننده سرطان دستگاه گوارش می باشد، توسعه مطالعات در این زمینه بسیار ارزشمند خواهد بود (۲، ۱). در روند ایجاد بیماری، این باکتری می تواند سال ها در معده مستقر شده و با درگیر کردن سیستم ایمنی بیمار باعث القا التهاب در موکوس معده شود. با تداوم التهاب، گاستریت مزمن به وجود می آید که این شرایط در بیماران مختلف ممکن است به آتروفی معده، متاپلازیایی روده ای و یا سرطان معده منجر گردد (۵، ۴). ضایعات پیش سرطانی فقط در دسته ای از جمعیت ممکن است به سرطان منجر گردد زیرا فاکتورهای مختلفی همچون فاکتورهای بیماری زایی باکتری (از جمله *cagA*، *rocF*، *vacA* و *ureA*) و فاکتورهای ژنتیکی میزبان که در بین گروه های نژادی با هم متفاوت است در بیماری زایی دارای اهمیت می باشند (۶). همچنین فاکتور *cagA* که توسط باکتری به داخل سلول های میزبان ترشح و با اتصال به فاکتور SHP2 باعث فعال شدن تیروزین فسفاتاز می شود که این امر تولید فاکتور رشد و سایتوکاین ها را در پی خواهد داشت (۷).

هلیکوباکتریلوری عامل التهاب مزمن در همه افراد آلوده است (۸) و این پاسخ التهابی مزمن باعث فراخوانی نوتروفیل ها در درجه اول و به دنبال آن لنفوسیت های T، B و ماکروفاژها به ناحیه التهاب می شود و پاسخ ایمنی ایجاد شده در ناحیه درگیر باعث التهاب و آسیب بافتی در اثر آزاد شدن واسطه های التهابی مانند سایتوکاین ها، رادیکال های آزاد اکسیژن و NO می شود (۹). سلول های TH17 در ترشح IL-17 که یک سایتوکاین پیش التهابی است نقش دارند و افزایش سلول های TH17 توسط IL-23 القاء می شود (۱۰، ۱۱)؛

از سویی IL-17 و IL-23 در دفاع بر علیه برخی عفونت های مخاطی دستگاه گوارش نقش دارند و این نقش با جذب نوتروفیل ها به محل عفونت توسط IL-17 انجام می شود (۱۱). با این حال IL-17 همیشه نقش دفاعی نداشته و مطالعه ای که بر روی موش ها صورت گرفته است نشان داده است که پاسخ های التهابی را می توان با تزریق آنتی بادی منوکلونال ضد IL-17 کاهش داد (۱۲)؛ همچنین در بیماران با پریودنتال شدید با افزایش مقادیر IL-17 مرتبط است (۱۳).

با توجه به میزان بالای بیماران با مشکلات معده ای - روده ای در استان چهارمحال و بختیاری که ممکن است آنان را مستعد ابتلا به سرطان معده نماید همچنین وجود این واقعیت که گاستریت یکی از مراحل قبل از سرطانی شدن در افراد دارای مشکلات معده ای - روده ای می باشد به نظر می رسد که از اطلاعات به دست آمده در رابطه با بیان ژنی سایتوکاین ها و ارتباط آن ها با نوع فاکتور ویروالانس باکتری، بتوان جهت فهم دقیق مکانیسم و عوامل دخیل در ایجاد بیماری جهت پیشگیری و غربالگری بیماران استفاده و نسبت به اقدامات پیشگیرانه معمول یا شناسایی بیماری در مراحل اولیه اقدام نمود. از سویی توسعه مطالعات در این زمینه، از طریق افزایش دانسته های ما در رابطه با مکانیسم بیماری زایی هلیکوباکتریلوری ممکن است به پیدا کردن راهکارهای مناسب درمانی کمک کند؛ لذا این مطالعه با هدف بررسی میزان بیان mRNA سایتوکاین های IL-17 و IL-23 در بافت مخاطی معده ای بیماران دارای گاستریت، توسط روش کمی Real-Time PCR، طراحی و اجرا شده است.

روش بررسی:

این مطالعه مورد - شاهدهی بر روی بیماران دارای گاستریت مراجعه کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد در سال ۱۳۸۹ انجام شده است. از ۵۸ نفر از بیماران دارای گاستریت مبتلا به هلیکوباکتریلوری که بر اساس نظر پزشک متخصص دارای علائم مشکلات

معهده ای- روده ای بودند ۳ عدد بیوپسی گرفته شد که یکی از بیوپسی ها برای داشتن باکتری در این افراد بر اساس مثبت شدن تست اوره آز، بیوپسی دیگر برای کارهای بیان ژن و سومی برای آزمایشات پاتولوژی (تشخیص حضور باکتری و نوع بیماری) و نیز مثبت شدن تست PCR برای ژن های 16SrRNA و glmM انتخاب شدند. 16SrRNA ژن کد کننده جزء 16SrRNA ریبوزومی می باشد و پرایمر مربوط به آن اختصاصی هلیکوباکتریلوری می باشد. ژن glmM نیز کد کننده فاکتور ureC بوده و جزء ژن های محافظت شده در هلیکوباکتریلوری است؛ بنابراین تشخیص مولکولی 16SrRNA و glmM بیانگر حضور باکتری در بافت مربوطه خواهد بود (۱۴).

در این مطالعه همچنین بیوپسی ۵۰ بیمار دارای گاستریت که در حال حاضر مبتلا به عفونت نبودند تهیه شد. این بیوپسی ها به منظور پایدار کردن mRNA بلافاصله بعد از نمونه گیری، در محلول مهار کننده RNase قرار گرفتند و به فریز -۷۰ درجه سانتیگراد انتقال داده شدند و نهایتاً به کمک کیت استخراج mRNA (کیت Invitrogen، آلمان)، Total RNA بافت بیوپسی ها استخراج شد. در ادامه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان Total RNA اندازه گیری و سپس ۳ میکرولیتر از Total RNA با استفاده از کیت Revertaid First cDNA synthesis (K1632, Fermentase) طبق روش شرکت سازنده به cDNA تبدیل شد. پرایمرهای مخصوص و پروب های TaqMan با استفاده از برنامه ی Primer Express (TAG Copenhagen)

طراحی شدند (جدول شماره ۱). تمام واکنش های Real-Time PCR در دستگاه Rotor Gene TM 3000 (Corbett) انجام شدند. برنامه زمانی- گرمایی دستگاه در سه مرحله تنظیم گردید. مرحله اول که منجر به واسرشتگی (Denaturation) مولکول های cDNA می شود، ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه، مرحله دوم ۴۵ سیکل که شامل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه جهت واسرشتگی و مرحله سوم ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه برای جفت شدن (Annealing) و گسترش (Extension) انجام شد. این واکنش ها در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در میکروتیوب های ۰/۱ میلی لیتری صورت گرفت. ترکیبات هر واکنش شامل ۱۲ میکرولیتر از TaqMan Universal PCR Master Mix (2X)، ۰/۴ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ پیکومولار و ۰/۲ میکرولیتر از پروب ها با غلظت ۱۰ پیکومولار، ۷ میکرولیتر آب RNase/DNase free و ۲ میکرولیتر cDNA الگو بود. در نهایت نمونه های مورد نظر در دستگاه قرار داده شدند و ۴۵ سیکل تکثیر انجام پذیرفت. برای بررسی آماری داده ها، ΔC_t ژن در هر نمونه از افتراق Ct ژن مربوطه و Ct ژن β -actin به عنوان ژن رفرانس محاسبه شد و اطلاعات جمع آوری شده با استفاده از آزمون آماری Mann-Whitney U برای بررسی بیان ژن در دو گروه مختلف، در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. همچنین برای تهیه شکل های مربوطه از نرم افزار GraphPad Prism 5 Demo استفاده گردید.

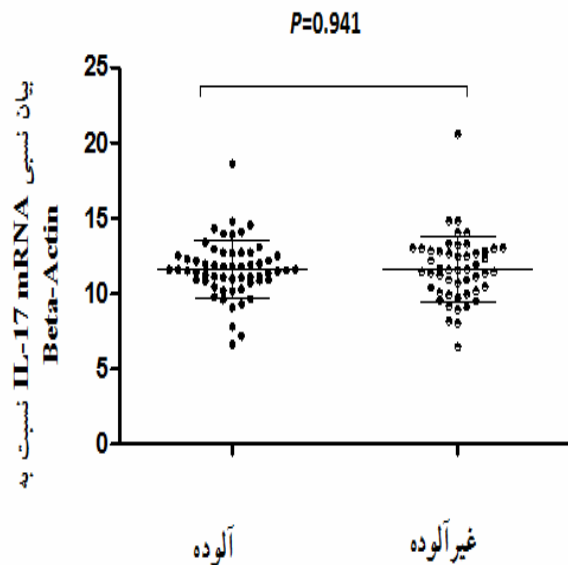
جدول شماره ۱: توالی پرایمرها و پروب های به کار رفته در این مطالعه

| ژن | پرایمرها و توالی پروب ها |
|---------------------------------|--|
| بتا اکتین (β -actin) | Forward 5-AGCCTCGCCTTTGCCGA-3 Reverse 5-CTGGTGCCTGGGGCG-3 Probe FAM-CCGCCGCCGTCCACACCCGCC-TAMRA |
| ایترلوکین - ۱۷ ($IL-17A$) | Forward 5-AATCTCCACCGCAATGAGGA-3 Reverse 5-ACGTTCCCATCAGCGTTGA-3 Probe FAM-CGGCACTTTGCCTCCAGATCACA-TAMRA |
| ایترلوکین - ۲۳ ($IL-23(p19)$) | Forward 5-TCAGTGCCAGCAGCTTTCAC-3 Reverse 5-TCTCTTAGATCCATGTGTCCAC-3 Probe FAM-CTCTGCACACTGGCCTGGAGTGCA-TAMRA |

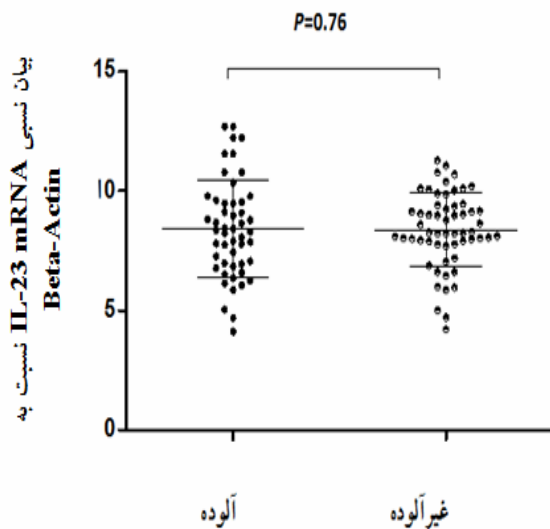
یافته‌ها:

در این مطالعه ۴۸ نفر بیمار مرد و ۶۰ نفر بیمار زن نمونه گیری شدند، که ۲۴ نفر از بیماران مرد و ۳۴ نفر از بیماران زن آلوده به هلیکوباکتر پیلوری بودند. میانگین سنی بیماران در گروه آلوده $41/71 \pm 15/41$ سال و در گروه فاقد آلودگی باکتریایی $39/10 \pm 16/68$ سال بود.

بررسی میزان بیان mRNA سایتوکاین های IL-17 و IL-23 در افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری و افراد غیر آلوده نشان داد که ارتباط معنی داری بین میزان بیان mRNA مربوط به IL-17 در افراد دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و افراد دارای گاستریت فاقد عفونت ($P=0/941$) وجود ندارد (نمودار شماره ۱). همچنین ارتباط معنی داری بین میزان بیان mRNA مربوط به IL-23 در بیماران دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بیماران دارای گاستریت فاقد عفونت دیده نشد ($P=0/76$) (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱: مقایسه میزان بیان سایتوکاین IL-17 در بیوپسی بیماران دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و افراد گاستریتی فاقد عفونت



نمودار شماره ۲: مقایسه میزان بیان سایتوکاین IL-23 در بیوپسی بیماران دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری و افراد گاستریتی فاقد عفونت

بحث:

هلیکوباکتر پیلوری در رده اول عوامل عفونی ایجاد کننده سرطان دستگاه گوارش قرار دارد (۱۵) و در مطالعات بسیاری که اخیراً در کشورهای مختلف بر روی این باکتری انجام پذیرفته است، ارتباط بیان سایتوکاین های مختلف با بیماری های معده ای-روده ای که توسط این باکتری القا می شوند گزارش شده است. به عنوان مثال در یکی از این گزارشات بیان شده است که پروتئین فعال کننده نوتروفیل که توسط باکتری تولید می شود باعث القای بیان سایتوکاین های IL-23 و IL-12 از نوتروفیل ها و ماکروفاژها در ناحیه التهاب می گردد (۱۶). از سویی اطلاعات از هر دو سیستم های حیوانی تجربی و بیماران مبتلا به سرطان انسان نشان می دهد که IL-17 و IL-23 به طور کلی برای رشد تومور مطلوب هستند و این اثرات، مهم بودن نقش آن ها در تولید سلول T ایمنی ضد تومور را بیان می دارد (۱۷). همچنین پیشنهاد می کند که IL-23 ممکن است بتواند به طور مستقیم مانع از توانایی سلول های T سیتوتوکسیک در نفوذ به تومور شود (۱۸) که این نیز به

در افراد آلوده نسبت به گروه شاهد (افراد سالم فاقد عفونت) بالاتر بوده است، اما تفاوت معنی داری بین افراد آلوده با سویه های cagA مثبت و افراد آلوده با cagA منفی دیده نشده است (۳۱، ۳۲) که با مطالعه که ما در ارتباط با بیان این سایتوکاین ها با فاکتورهای ویروالانس انجام شد، مطابقت داشت.

نتیجه گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان بیان mRNA های مربوط به IL-17 و IL-23 در بیماران دارای گاستریت با عفونت هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با بیماران گاستریتی بدون عفونت بالاتر نمی باشد و احتمالاً چون این بیماران قبلاً عفونت هلیکوباکتر پیلوری داشته و تحت درمان قرار گرفته اند میزان بیان این دو سایتوکاین دستخوش تغییر شده است؛ با این وجود پیشنهاد می گردد تا مطالعات بیشتری بر روی گروه شاهد بدون گاستریت در مقایسه با گروه بیماران آلوده به هلیکوباکتر پیلوری دارای گاستریت انجام گیرد تا نقش دقیق سایتوکاین های مختلف در بروز بیماری مشخص شود.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از پرسنل بخش آندوسکوپی بیمارستان هاجر استان چهارمحال و بختیاری و کلیه بیمارانی که صمیمانه ما را در اجرای این مطالعه یاری رساندند و همچنین از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، جهت تأمین بودجه و تصویب این پایان نامه و نیز از کلیه کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی شهرکرد کمال تشکر دارد.

عنوان القاء کننده اصلی سنتز IL-17 توسط لنفوسیت ها در قسمت زیر لایه اپی تلایل معده پیشنهاد می شود (۱۹). مطالعات اولیه بر روی IL-23 نیز نشان داده اند که این سایتوکین به شدت با یک زیر مجموعه جدیدی از التهاب CD4 همراه است و سلول های T که باعث ترشح سطح بالایی از IL-17 شده اند پس از آن به عنوان سلول های Th17 نامیده می شوند (۲۱-۱۹). با این وجود در برخی از مطالعات ضرورت وجود IL-23 برای تمایز سلول های Th17 مورد تایید قرار نگرفته است و تنها به نقش حفاظتی و القایی در گسترش سلول های Th17 اشاره شده است (۲۴-۲۲).

در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۵ انجام گرفت سطح mRNA سایتوکاین های IL-8 و IL-17 در افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با افراد سالم بدون گاستریت به طور معنی داری بیشتر بود و همچنین سطح mRNA این سایتوکاین ها به طور معنی داری با درجه نفوذ مونو نوکلترها و نوتروفیل ها در ناحیه التهاب وابسته بود (۲۵). اما در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین میزان بیان سایتوکاین ها در دو گروه مورد مطالعه دیده نشد؛ شاید به این علت که گروه شاهد دارای گاستریت، سابقه ابتلاء به هلیکوباکتر پیلوری داشته اند. تحقیقات نشان داده اند که سایتوکاین های IL-17 و IL-8 عامل جذب نوتروفیل ها به ناحیه التهاب بوده (۲۶) و نوتروفیل ها نیز عامل اصلی آسیب بافتی هستند (۲۷). همچنین افزایش بیان IL-17 در بیماری های التهابی از جمله روماتوئید آرتریت، لوپوس، مالتیل اسکلروزیس، بیماری التهابی روده، آسم و بیماری کرون گزارش شده است (۳۱-۲۸). مطالعه ای که در سال ۲۰۰۷ انجام گرفته نیز نشان داده است که سطح mRNA سایتوکاین های IL-17 و IL-23 به طور معنی داری

منابع:

1. Hatakeyama M. *Helicobacter pylori* and gastric carcinogenesis. J Gastroenterol. 2009; 44(4): 239-48.
2. Delport W, Cunningham M, Olivier B, Preisig O, van der Merwe SW. A population genetics pedigree perspective on the transmission of *Helicobacter pylori*. Genetics. 2006 Dec; 174(4): 2107-18.
3. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin. 2005 Mar-Apr; 55(2): 74-108.
4. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med. 2002 Oct; 347(15): 1175-86.
5. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastric diseases. BMJ. 1998 May; 316(7143): 1507-10.
6. Lee I, Lee H, Kim M, Fukumoto M, Sawada S, Jakate S, et al. Ethnic difference of *Helicobacter pylori* gastritis: Korean and Japanese gastritis is characterized by male- and antrum-predominant acute foveolitis in comparison with American gastritis. World J Gastroenterol. 2005 Jan; 11(1): 94-8.
7. Nesic D, Miller MC, Quinkert ZT, Stein M, Chait BT, Stebbins CE. *Helicobacter pylori* CagA inhibits PAR1-MARK family kinases by mimicking host substrates. Nat Struct Mol Biol. 2010 Jan; 17(1): 130-2.
8. Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, Bauer M, Appleman MD, Perez-Perez GI, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. N Engl J Med. 1989 Dec; 321(23): 1562-6.
9. Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. J Clin Pathol. 1986 Apr; 39(4): 353-65.
10. Romagnani S. Human Th17 cells. Arthritis Res Ther. 2008; 10(2): 206.
11. Gaffen SL. An overview of IL-17 function and signaling. Cytokine. 2008 Sep; 43(3): 402-7.
12. Rutitzky LI, Lopes da Rosa JR, Stadecker MJ. Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17. J Immunol. 2005 Sep; 175(6): 3920-6.
13. Kramer JM, Gaffen SL. Interleukin-17: a new paradigm in inflammation, autoimmunity, and therapy. J Periodontol. 2007 Jun; 78(6): 1083-93.
14. Moss SF, Sood S. *Helicobacter pylori*. Curr Opin Infect Dis. 2003 Oct; 16(5): 445-51.
15. Amedei A, Cappon A, Codolo G, Cabrelle A, Polenghi A, Benagiano M, et al. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* promotes Th1 immune responses. J Clin Invest. 2006 Apr; 116(4): 1092-101.
16. Fridman WH, Tartour E. Macrophage- and lymphocyte-produced Th1 and Th2 cytokines in the tumour microenvironment. Res Immunol. 1998 Sep-Oct; 149(7-8): 651-3.
17. Langowski JL, Kastelein RA, Oft M. Swords into plowshares: IL-23 repurposes tumor immune surveillance. Trends Immunol. 2007 May; 28(5): 207-12.

18. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, et al. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res.* 1995 May; 55(10): 2111-5.
19. Queiroz DM, Mendes EN, Carvalho AS, Rocha GA, Oliveira AM, Soares TF, et al. Factors associated with *Helicobacter pylori* infection by a cagA-positive strain in children. *J Infect Dis.* 2000 Feb; 181(2): 626-30.
20. Rudi J, Rudy A, Maiwald M, Kuck D, Sieg A, Stremmel W. Direct determination of *Helicobacter pylori* vacA genotypes and cagA gene in gastric biopsies and relationship to gastrointestinal diseases. *Am J Gastroenterol.* 1999 Jun; 94(6): 1525-31.
21. Miehke S, Kibler K, Kim JG, Figura N, Small SM, Graham DY, et al. Allelic variation in the cagA gene of *Helicobacter pylori* obtained from Korea compared to the United States. *Am J Gastroenterol.* 1996 Jul; 91(7): 1322-5.
22. Pan ZJ, Van der Hulst RW, Feller M, Xiao SD, Tytgat GN, Dankert J, et al. Equally high prevalences of infection with cagA-positive *Helicobacter pylori* in Chinese patients with peptic ulcer disease and those with chronic gastritis-associated dyspepsia. *J Clin Microbiol.* 1997 Jun; 35(6): 1344-7.
23. Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, Lo uw JA. Heterogeneity in the *Helicobacter pylori* vacA and cagA genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? *Gut.* 1999 Oct; 45(4): 499-502.
24. Mizuno T, Ando T, Goto H. [Relationship of interleukin (IL)-17 and IL-8 levels in gastric mucosal damage of the *Helicobacter pylori* infected gastric ulcer patients]. *Nihon Rinsho.* 2005 Nov; 63(Suppl 11): 93-7.
25. Sebkova L, Pellicano A, Monteleone G, Grazioli B, Guarnieri G, Imeneo M, et al. Extracellular signal-regulated protein kinase mediates interleukin 17 (IL-17)-induced IL-8 secretion in *Helicobacter pylori*-infected human gastric epithelial cells. *Infect Immun.* 2004 Sep; 72(9): 5019-26.
26. Hue S, Ahern P, Buonocore S, Kullberg MC, Cua DJ, McKenzie BS, et al. Interleukin-23 drives innate and T cell-mediated intestinal inflammation. *J Exp Med.* 2006 Oct; 203(11): 2473-83.
27. Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, Fox DA. Th17 cells in human disease. *Immunol Rev.* 2008 Jun; 223: 87-113.
28. Garrett-Sinha LA, John S, Gaffen SL. IL-17 and the Th17 lineage in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2008 Sep; 20(5): 519-25.
29. Maloy KJ. The Interleukin-23 / Interleukin-17 axis in intestinal inflammation. *J Intern Med.* 2008 Jun; 263(6): 584-90.
30. Song C, Luo L, Lei Z, Li B, Liang Z, Liu G, et al. IL-17-producing alveolar macrophages mediate allergic lung inflammation related to asthma. *J Immunol.* 2008 Nov; 181(9): 6117-24.
31. Caruso R, Pallone F, Monteleone G. Emerging role of IL-23/IL-17 axis in *H.pylori*-associated pathology. *World J Gastroenterol.* 2007 Nov; 13(42): 5547-51.
32. Bagheri N, Rahimian G, Salimzadeh L, Azadegan F, Rafieian-Kopaei M, Taghikhani A, et al. Association of the virulence factors of *Helicobacter pylori* and gastric mucosal interleukin-17/23 mRNA expression in dyspeptic patients. *EXCLI J.* 2013; 12: 5-14.

Expression levels of mRNA cytokines of IL-17 and IL-23 in epithelial fiber of stomach inpatients with *Helicobacter pylori* using Real-Time PCR in Chahar Mahal and Bakhtiari province

Bagheri N (MSc)¹, Salimzadeh L (MSc)², Azadegan-Dehkordi F (MSc)², Hashemzadeh M (PhD)², Heydari S (MSc)², Rahimian R (PhD)², Rahimian Gh (MD)², Taghikhani A (MD)², Rafieian-Koupaei M (PhD)³, Kheiri S (PhD)⁴, Shirzad H (PhD)^{2*}

¹Immunology Dept., School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ²Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ³Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; ⁴Biostatistics & Epidemiology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 10/Nov/2012 Revised: 3/Aug/2013 Accepted: 14/Aug/2013

Background and aims: IL-17 and IL-23 play an important role in intestinal mucosal defense against certain infections IL-17 causes neutrophils absorption to the site of infection and it results in inflammation. In this study, IL-23 and IL-17 mRNA expression levels will be checked in gastritis patients with *Helicobacter pylori* infection and patients without infection by quantitative Real-Time PCR Method.

Methods: In this a case – control study, 58 patients with gastritis with *H. pylori* infection and 50 patients who were free of infection, were biopsy through endoscopy. After extracting mRNA into cDNA, mRNA IL-17 and IL-23 expression levels in samples were measured by Real-Time PCR and cytokines expression were analyzed between infected and non infected groups using the Mann–Whitney test.

Results: In this study, no significant relation was observed between IL-17 mRNA expression in patients with *H. pylori* gastritis and gastritis patients without infection ($P=0.941$). And also no significant correlation was observed between the expression levels of mRNA IL23 in patients with *Helicobacter pylori* gastritis and patients without infection ($P=0.76$)

Conclusions: The results showed that expression level in IL-17 mRNA and IL-23 in patients with *Helicobacter pylori* gastritis compare with the patients without infection is not higher, so there is not a significant relationship between the two groups. Therefore it's requiring to seek the role of other involved cytokines in appearing gastritis for evaluation the treatment program.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Interleukin, Real-time PCR.

Cite this article as: Bagheri N, Salimzadeh L, Azadegan-Dehkordi F, Hashemzadeh M, Heydari S, Rahimian R, et al. Expression levels of mRNA cytokines of IL-17 and IL-23 in epithelial fiber of stomach inpatients with *Helicobacter pylori* using Real-Time PCR in Chahar Mahal and Bakhtiari province. J Shahrekord Univ Med Sci. 2014 Feb, March; 15(6): 124-131.

*Corresponding author:

Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, I.R. Iran, Tel: 00983813335654, E -mail: shirzadeh@yahoo.com.